



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) DE 699 25 936 T2 2006.05.11

(12)

## Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) EP 1 140 273 B1

(51) Int Cl.<sup>8</sup>: A61M 29/02 (2006.01)

(21) Deutsches Aktenzeichen: 699 25 936.3

(86) PCT-Aktenzeichen: PCT/US99/28544

(96) Europäisches Aktenzeichen: 99 962 978.5

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: WO 00/32267

(86) PCT-Anmeldetag: 03.12.1999

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: 08.06.2000

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: 10.10.2001

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: 22.06.2005

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: 11.05.2006

(30) Unionspriorität:

204254 03.12.1998 US

(84) Benannte Vertragsstaaten:

AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,  
LI, LU, MC, NL, PT, SE

(73) Patentinhaber:

Boston Scientific Ltd., St Michael, Barbados, BB;  
St. Elizabeth's Medical Center, Inc., Boston, Mass.,  
US

(72) Erfinder:

PALASIS, Maria, Wellesley, US; WALSH, Kenneth,  
Carlisle, US

(74) Vertreter:

Patent- und Rechtsanwälte Bardehle, Pagenberg,  
Dost, Altenburg, Geissler, 81679 München

(54) Bezeichnung: VORRICHTUNG ZUR LOKALEN VERABREICHUNG EINER ARZNEI IN EINER KÖRPERHÖHLE

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingereicht, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

## Beschreibung

### GEBIET DER ERFINDUNG

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft die ortspezifische Zufuhr von therapeutischen Wirkstoffen zu Zielorten innerhalb von Körperhöhlungen, Gefäßen oder Geweben.

### HINTERGRUND

[0002] Die Behandlung einer Krankheit wie einer Gefäßkrankheit durch lokale Arzneimitteltherapie zeigt ein Mittel einer Zuführung therapeutischer Arzneimitteldosen zu Zielgeweben, während systemische Nebeneffekte minimiert werden. Kürzlich hat z.B. die lokale Zufuhr von Genkonstrukten, um die Gefäßreaktion zu beeinflussen, wachsendes Interesse gefunden. Gentransfektion von Gefäßglattmuskelzellen in vivo verbleibt jedoch ein Problem aufgrund der niedrigen Austauscheffizienz, die teilweise ineffizienten, lokalen Zuführgeräten und den Barriereeigenschaften der Gefäßwand zugeschrieben wird.

[0003] Als ein Beispiel für lokalisierte Zufuhr von therapeutischen Wirkstoffen wurde in vivo adenovirale Genübertragung erzielt unter Verwendung von ortsspezifischen Zufuhrkathetern. Unabhängig von dem verwendeten, lokalen Zuführgerät haben die meisten Studien virale Dosen im Bereich von  $1 \times 10^9$  bis  $1 \times 10^{10}$  pfu/ml über ausgedehnte Zufahrzeiten von 20 Minuten oder länger zugeführt, und typischerweise in Zufuhrvolumina von 1 ml oder mehr. Auch wenn diese Bedingungen weitläufig verwendet werden, deutet der Mangel an Optimierungsstudien mit lokalen Zuführgeräten an, dass die Zufahrbedingungen nicht notwendigerweise optimal sind.

[0004] Weiterhin sind konventionelle lokalisierte Techniken oft invasiv, dadurch dass sie typischerweise Seitenzweigabbindung, lange Zufahrzeiten beinhalten und, wenn das Zuführgerät ein expandierbares Gerät wie in Ballonkatheter ist, sind diese Techniken üblicherweise mit hohen Drücken verbunden, um die Arzneimittelzufuhr zu erzielen. Lokalisierte Zufuhrtechniken, die von langen Zufahrzeiten und hohen Drücken und Volumina Gebrauch machen, resultieren oft in Gewebeschäden, Bluteere oder anderen Problemen. Es wurden Anstrengungen unternommen, um die Zufahrzeit von einem infusionsbasierten Gerät, das einen Polymerträger wie Poloxamer (BASF-Unternehmen) verwendet, zu reduzieren, wodurch Zufahrzeiten von 30 Minuten auf 5 Minuten gesenkt sind. Die klinische Anwendung dieses Ansatzes bleibt jedoch ungewiss.

[0005] WO 92/11896 offenbart einen Katheter zur Zuführung eines Arzneimittels an Gewebe an einem gewünschten Ort der Wand eines Körperlumens. Der Katheter ist zur Einführung in ein Körperlumen konstruiert und weist einen Katheterschaft und ein expandierbares Teil auf, das auf dem Katheterschaft befestigt ist. Das expandierbare Teil ist expandierbar zu einem kontrollierten Druck, um den Querschnitt des Körperlumens zu füllen und um gegen die Wand des Körperlumens zu drücken. In einer Ausführungsform wird zumindest ein Teil der äußeren Oberfläche des expandierbaren Teils durch eine Beschichtung aus einem zähen, angehafteten, quellfähigen Hydrogelpolymer definiert. In dem Hydrogelpolymer ist eine gesättigte Lösung eines vorgewählten Arzneimittels, das an das Gewebe oder Plaque zu liefern ist, enthalten. Das Hydrogelpolymer und das Arzneimittel sind ausgewählt, um eine schnelle Freigabe einer erwünschten Dosis des Arzneimittels von der Hydrogelpolymerbeschichtung zu erlauben, während der Kompression der Hydrogelpolymerbeschichtung gegen die Wand des Lumens, wenn das expandierbare Teil expandiert ist. In anderen Ausführungsformen wird das Polymer von dem expandierbaren Teil in Reaktion auf Druck freigegeben, um die Wand des Körperlumens zu beschichten.

### ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

[0006] Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist, ein System zur lokalisierten Zufuhr eines therapeutischen Wirkstoffs zu verbessern, so dass der Wirkstoff tiefer in das Zielgewebe getrieben wird. Dieses Ziel und andere Ziele werden erreicht gemäß der Erfindung durch ein System zur lokalisierten Zufuhr eines therapeutischen Wirkstoffs, wie definiert im unabhängigen Anspruch 1. Vorteilhafte Ausführungsformen werden in den abhängigen Ansprüchen dargestellt. Die Vorteile der vorliegenden Erfindung werden für die, die in der Technik bewandert sind, offensichtlich werden.

### KURZE BESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

[0007] Fig. 1 zeigt ein medizinisches Gerät in Übereinstimmung mit einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung.

[0008] Fig. 2 zeigt einen Querschnitt eines Infusionskatheters, der in Übereinstimmung mit einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung verwendet wird.

[0009] Fig. 3 zeigt einen Stent, der in Übereinstimmung mit einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung verwendet wird.

[0010] Fig. 4 zeigt ein medizinisches Gerät, das zu einem Zielort innerhalb einer Körperhöhlung positioniert ist, in Übereinstimmung mit einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung.

#### DETAILLIERTE BESCHREIBUNG

[0011] Die vorliegende Erfindung überwindet die Unzulänglichkeiten konventioneller lokalisierter Arzneimittelzuführtechniken durch Bereitstellen eines Systems zur lokalierten Zufuhr eines therapeutischen Wirkstoffs an Gewebe. Das System der vorliegenden Erfindung macht vorteilhafterweise Verwendung von niedrigen Zufuhrdrücken und kurzen Zufuhrdauern, um die schnelle und sichere lokale Zufuhr von therapeutischen Wirkstoffen an irgendein geeignetes Lumen, Höhlung oder Gewebe im Körper, wie z.B. Blutadern, Herzgewebe und Orte im Magen-Darm-Trakt und urologischem und gynäkologischem System, bereitzustellen. Die Begriffe „Arzneimittel“ und „therapeutischer Wirkstoff“ werden hierin austauschbar verwendet und schließen pharmazeutisch aktive Komponenten, Nukleinsäuren mit und ohne Trägervektoren wie Lipide, kompaktierende Wirkstoffe (wie Histone), Virus, Polymere, Proteine und ähnliches mit oder ohne Zielsequenzen ein.

[0012] Bei der lokalierten Zufuhr von therapeutischen Wirkstoffen sind druckgetriebene Konvektion und konzentrationsgetriebene Diffusion die beiden vorherrschenden Transportmechanismen in das Zielgewebe. Die relative Wichtigkeit dieser Mechanismen ist jedoch bisher nicht gut verstanden worden. Konvektionsfluss ist definiert als ein Flüssigkeitsfluss durch einen Lösungsraum aufgrund einer Druckdifferenz, die über ein Gebiet von Gewebe wirkt. Konvektiver Transport gelöster Flüssigkeiten tritt auf, wenn ungelöste Lösungsstoffe entlang dem Flüssigkeitsfluss getragen werden. Auch wenn kleine Moleküle im Allgemeinen leicht mit dem Flüssigkeitsfluss mitgeführt werden, tendiert ein Siebeffekt durch das Gewebe dazu, große Moleküle zurückzuhalten. Im Gegensatz zu konvektivem Transport ist molekulare Diffusion definiert als Transport gelöster Stoffe von Gegenden hoher Konzentration zu Gegenden niedriger Konzentration aufgrund zufälliger Molekularbewegungen. Transport aufgrund molekularer Diffusion ist direkt proportional zu einem angelegten Konzentrationsgradienten.

[0013] Die Erfinder haben überraschenderweise herausgefunden, dass unter angemessenen Bedingungen therapeutische Wirkstoffe in Gewebe hineintransportiert werden, in einer Art und Weise, die mit molekulärer Diffusion konsistent ist. Entsprechend haben die Erfinder überraschenderweise herausgefunden, dass Variationen im angelegten Druck während lokalisierter Arzneimittelzuführung keinen signifikanten Effekt auf den Transport von Arzneimittelwirkstoffen oder anderen therapeutischen Wirkstoffen im Zielgewebe haben. Die vorliegende Erfindung macht Gebrauch von dieser Erkenntnis durch Bereitstellen einer Arzneimittelzufuhr basierend auf den Prinzipien konzentrationsgetriebener Diffusion. Die Zufuhr von therapeutischen Wirkstoffen wird daher erzielt durch Kontrolle der Konzentration des therapeutischen Wirkstoffs an einem Zielort, eher als sich auf druckgetriebene Prozesse zu verlassen.

[0014] In einem Aspekt schließt die vorliegende Erfindung ein System zur lokalierten Zufuhr eines therapeutischen Wirkstoffs an einen Zielort mittels einer im Wesentlichen gesättigten Lösung ein.

[0015] Um hohe Effizienz der Arzneimittelzufuhr durch konzentrationsgetriebene Molekulardiffusion zu erreichen, ist der therapeutische Wirkstoff in das medizinische Gerät als eine im Wesentlichen gesättigte Lösung eingearbeitet. Wie hierin verwendet, bedeutet „im Wesentlichen gesättigte Lösung“, dass die Konzentration von ungelöstem, therapeutischem Wirkstoff in einer Lösung, wie z.B. Wasser oder einem anderen physiologisch akzeptierbaren Träger, wenigstens ungefähr 75% ist, bevorzugterweise mindestens ungefähr 80%, 85%, 90%, 95% oder 100% der Grenzlöslichkeit des therapeutischen Wirkstoffs in dem Lösungsmittel. Alternativ ist die Konzentration des therapeutischen Wirkstoffs durch die Konzentration beschränkt, die in einer unerwünschten toxischen Reaktion von einem Patienten resultiert. Die im Wesentlichen gesättigte Lösung ist „verbunden mit“ dem medizinischen Gerät, dadurch, dass der therapeutische Wirkstoff in einem Hohlraum (Hohlräumen) des Gerätes gehalten wird, wie in einem infusionsartigen Katheter, wie einem Kanalballonkatheter; oder der therapeutische Wirkstoff ist auf die Oberfläche des Gerätes beschichtet als Beschichtung per se oder als Teil einer Beschichtung; oder die im Wesentlichen gesättigte Lösung ist gehalten in oder passiert durch das medizinische Gerät, wie z.B. in einem Nadelinjektionskatheter.

**[0016]** Die vorliegende Erfindung wird hierin mit spezifischer Bezugnahme auf einen expandierbaren Katheter als das medizinische Gerät beschrieben.

**[0017]** Der mit der vorliegenden Erfindung verwendete Katheter ist irgendein geeigneter Katheter, wie z.B. ein Infusionskatheter (wie z.B. ein kanalisierte Ballonkatheter wie beschrieben in US-Patent Nr. 5,254,089, Transportkatheter oder mikroporöser Ballonkatheter), ein Angioplastieballonkatheter, ein Doppelballonkatheter oder ein Infusionsgewebeschutzkatheter, wie sie aus der Technik bekannt sind. Der therapeutische Wirkstoff ist angebracht an oder eingearbeitet in den expandierbaren Teil eines solchen Katheters. Zum Beispiel ist der therapeutische Wirkstoff eingeschlossen als Teil einer Polymerbeschichtung, die an dem expandierbaren Teil angebracht ist. Alternativ ist der therapeutische Wirkstoff direkt eingearbeitet in den expandierbaren Teil. Alternativ wird der therapeutische Wirkstoff in den Katheter eingeführt, nachdem der Katheter an das Zielgewebe positioniert ist, durch Einbringen des therapeutischen Wirkstoffs durch die Infusionsöffnung eines Infusionskatheters.

**[0018]** In Übereinstimmung mit der vorliegenden Erfindung wird, sobald der Katheter an dem Zielort positioniert ist, der therapeutische Wirkstoff freigesetzt bei einem Druck von nicht mehr als ungefähr 5 Atmosphären, bevorzugterweise nicht mehr als ungefähr 1 Atmosphäre und stärker bevorzugt nicht mehr als ungefähr 0,1 Atmosphären. Der Katheter wird an dem Zielort zur therapeutischen Wirkstoffzufuhr für eine Dauer gehalten von nicht mehr als ungefähr 5 Minuten, bevorzugterweise nicht mehr als ungefähr 2 Minuten und stärker bevorzugt nicht mehr als ungefähr 1 Minute. Weil die vorliegende Erfindung Gebrauch macht von konzentrationsgetriebener Molekulardiffusion anstelle von druckgetriebener Konvention zur Zufuhr von therapeutischen Wirkstoffen, erlaubt sie niedrige Zufuhrdrücke und Zeitspannen, die hiervor in der Technik nicht bekannt waren. Die Zufuhrtechniken der vorliegenden Erfindung minimieren daher das Risiko von Gewebeschäden, Blutleere, usw., allgemein verbunden mit konventionellen lokalisierten Zufuhrtechniken.

**[0019]** Mit spezifischer Bezugnahme auf **Fig. 1** wird die Zufuhr eines therapeutischen Wirkstoffs an einen Zielort erreicht mit der Verwendung eines medizinischen Gerätes **100**, das einen Katheter **110** umfasst, der einen expandierbaren Teil **120** aufweist. Der expandierbare Teil **120** des Katheters **110** ist optional beschichtet mit einem Polymer zum Halten des therapeutischen Wirkstoffs während der Zuführung in den Körper. Die Polymerbeschichtung **130** ist bevorzugterweise in der Lage, einen wesentlichen Teil der Arzneimittellösung aufzunehmen. Die Polymerbeschichtung **130** ist auf das expandierbare Teil **120** platziert durch irgendein geeignetes Mittel, wie z.B. durch Immersion, Sprühen oder Abscheidung durch Plasma oder Aufdampfung. Das Polymer wird typischerweise angewendet in einer Dicke von ungefähr 1 bis 30 Mikrometern, bevorzugterweise ungefähr 2 bis 5 Mikrometern. Sehr dünne Polymerbeschichtungen, z.B. ungefähr 0,2 bis 0,3 Mikrometer, und viel dickere Beschichtungen, z.B. mehr als 30 Mikrometer, sind ebenfalls möglich. Es ist ebenfalls im Umfang der vorliegenden Erfindung, Mehrfachschichten von Polymerbeschichtungen auf dem expandierbaren Teil **120** des Katheters **110** anzubringen. Solche Mehrfachschichten können aus den gleichen oder unterschiedlichen Polymermaterialien sein, und sie können verschiedene Funktionen ausführen (z.B. für Biokompatibilität, zur Kontrolle der Arzneimittelfreigabe, usw.).

**[0020]** Die Polymerbeschichtung **130** umfasst irgendein Polymermaterial, das in der Lage ist, den zuzuführenden therapeutischen Wirkstoff zu absorbieren oder andernfalls zu halten. Das Polymermaterial ist z.B. hydrophil, hydrophob und/oder biologisch abbaubar und ist bevorzugterweise ausgewählt von der Gruppe bestehend aus Polykarbonsäuren, Cellulosepolymeren, Gelatine, Polyvinylpyrrolidone, Maleinsäureanhydridpolymeren, Polyamiden, Polyvinylalkoholen, Polyethylenoxiden, Glykosaminglykanen, Polysacchariden, Polystern, Polyurethanen, Silikonen, Polyorthoestern, Polyanhydriden, Polykarbonaten, Polypropylenen, polylaktischen Säuren, Polyglykolsäuren, Polykaprolaktonen, Polyhydroxybutyratvaleraten, Polyacrylamiden, Polylethern und Mixturen von Copolymeren hiervon. Beschichtungen aus Polymerdispersionen, wie Polyurethandispersionen (BAYHDROL, usw.) und Acryllatexdispersionen sind ebenfalls im Bereich der vorliegenden Erfindung. Bevorzugte Polymere schließen ein, Polyacrylsäure, wie beschrieben in US-Patent Nr. 5,091,205, und wässrige Beschichtungszusammensetzungen, die eine wässrige Dispersion oder Emulsion von einem Polymer mit organischen Säurefunktionsgruppen aufweist, und ein polyfunktionales Vernetzungsmittel, das funktionale Gruppen aufweist, die in der Lage sind, mit organischen Säuregruppen zu reagieren, wie beschrieben in US-Patent Nr. 5,702,754.

**[0021]** Der therapeutische Wirkstoff wird eingeführt auf das expandierbare Teil **120** oder alternativ in die Polymerbeschichtung **130** durch irgendein geeignetes Verfahren. Zum Beispiel wird der therapeutische Wirkstoff in einer Lösung platziert, die danach angebracht wird auf das expandierbare Teil **120** oder die Polymerbeschichtung **130** durch irgendein geeignetes Mittel, einschließlich des Eintauchens in die Arzneimittellösung oder des Applizierens der Lösung durch Pipette oder Sprühen. In dem vorherigen Verfahren wird die Menge

des beladenen Arzneimittels kontrolliert durch die Regulierung der Zeit, die die Polymerbeschichtung (130) in die Arzneimittellösung eingetaucht wird, des Ausmaßes der Polymerbeschichtungsvernetzung, der Wechselwirkungen zwischen dem Polymer- und dem Arzneimittel (d.h. Bindung, Van-der-Waals-Kräfte, Ladungswechselwirkungen, usw.), der Konzentration des Arzneimittels in der Lösung und/oder der Menge der Polymerbeschichtung 130. In einer anderen Ausführungsform der Erfindung ist das Arzneimittel direkt in das Polymer eingearbeitet, das in der Polymerbeschichtung 130 verwendet wird, vor der Anwendung des Polymers als Beschichtung auf einem medizinischen Gerät. Wenn das medizinische Gerät, das in der vorliegenden Erfindung verwendet wird, ein Infusionskatheter 400 ist, wie der im Querschnitt in Fig. 2 gezeigte, wird die im Wesentlichen gesättigte Lösung des therapeutischen Wirkstoffs (gezeigt in Fig. 2 als 405) nicht auf den Katheter beschichtet, sondern sie wird an das Zielgewebe zugeführt durch Infusion durch den Kanal 410 des Infusionskatheters 400.

**[0022]** Der in der vorliegenden Erfindung verwendete therapeutische Wirkstoff schließt z.B. pharmazeutisch aktive Zusammensetzungen, Proteine, Oligonukleotide, Ribozyme, Anti-Wahrnehmungsgene, DNA-kompaktierende Wirkstoffe, Gen-/Vektorsysteme (d.h. irgendetwas, das die Aufnahme und Ausdrückung von Nukleinsäuren erlaubt), Nukleinsäuren (einschließlich z.B. rekombinanter Nukleinsäuren; nackter DNA, cDNA, RNA; genomicscher DNA, cDNA oder RNA in einem nicht übertragbaren Vektor oder in einem viralen Vektor, der Peptidzielsequenzen verbunden haben kann; Anti-Wahrnehmungsnukleinsäure (RNA oder DNA); und DNA-Chimäre, was einschließt Gensequenzen und Verschlüsselungen für Übertragungsproteine wie Membrantranslokalisierungssequenzen („MTS“) und Herpes-Simplex-Virus-1 („VP22“)), und virale, liposome und kationische Polymere, die von einer Anzahl von Arten ausgewählt werden, in Abhängigkeit von der gewünschten Anwendung. Zum Beispiel schließen biologisch aktive Lösungen ein antithrombotische Wirkstoffe wie Heparin, Heparinabzweigungen, Urokinase, PPACK (Dextrophenylanalin-Prolin-Arginin-Chloromethylketon), Rapamycin, Probuclol und Verapamil; gefäßbildende und anti-gefäßbildende Wirkstoffe; antiproliferative Wirkstoffe wie Enoxaprin, Angiopeptin oder monoklonale Antikörper, die in der Lage sind, Glattmuskelzellproliferation zu blockieren, Hirudin und Acetylsalizylsäure; antirheumatische Wirkstoffe wie Dexamethason, Prednisolon, Kortikosteron, Budesonid, Estrogen, Sulfasalzin und Mesalamin; antineoplastische/antiproliferative/antimitotische Wirkstoffe wie Paklitaxel, 5-Fluorouracil, Cisplatin, Vinblastin, Vinkristin, Epothilon, Endostatin, Angiostatin und Thymidin-Kinase-Hemmer; anästhetische Wirkstoffe wie Ladicain, Bupivacain und Ropivacain; Antikoagulantien wie D-Phe-Pro-Arg-Chloromethylketon, eine RGD-Peptid beinhaltende Komponente, Heparin, Anti-Thrombin-Verbindungen, Blutplättchenrezeptorantagonisten, Anti-Thrombin-Antikodies, Antikörperrezeptorantikörper, Aspirin, Prostaglandinhemmer, Blutblättchenhemmer und dicke Antikörperblättchenfaktoren; Gefäßzellenwachstumsförderer wie Wachstumsfaktoren, Wachstumsfaktorrezeptorantagonisten, transkriptionale Aktivierer und translationale Förderer; Gefäßzellwachstumshemmer wie Wachstumsfaktorhemmer, Wachstumsfaktorrezeptorantagonisten, transkriptionale Repressoren, translationale Repressoren, Replikationshemmer, Hemmungsantikörper, Antikörper, die gegen Wachstumsfaktoren gerichtet sind, bifunktionale Moleküle, die aus einem Wachstumsfaktor und einem Cytotoxin bestehen, bifunktionale Moleküle, die aus einem Antikörper und einem Cytotoxin bestehen; Cholesterinsenkungswirkstoffe; gefäßweiternde Wirkstoffe; Wirkstoffe, die Auswirkungen haben auf endogene gefäßaktive Mechanismen; Überlebensgene, die vor Zelltod schützen, wie anti-apoptotische Bcl-2-Familienfaktoren und Akt-Kinase; und Kombinationen davon. Diese und andere Verbindungen werden zu der Polymerbeschichtung hinzugefügt, unter Verwendung ähnlicher Verfahren und routinemäßig getestet, wie in der Spezifikation dargelegt. Alle Modifikationen werden routinemäßig durch den, der in der Technik bewandert ist, vorgenommen.

**[0023]** Polynukleide Sequenzen, die in der Durchführung der Erfindung hilfreich sind, schließen ein DNA- oder RNA-Sequenzen mit therapeutischen Effekten, nachdem sie von einer Zelle aufgenommen wurden. Beispiele für therapeutische Polynukleide schließen ein, Anti-Wahrnehmungs-DNA und -RNA; DNA-Kodierung für Anti-Wahrnehmungs-RNA; oder DNA-Kodierung für tRNA oder rRNA, um Defekte oder schlechte endogene Moleküle zu ersetzen. Die Polynukleotiden der Erfindung können ebenfalls für therapeutische Polypeptide kodieren. Ein Polypeptid wird verstanden als irgendein Übersetzungsprodukt eines Polynukleotids, unabhängig von Größe und ob glykosyliert oder nicht. Therapeutische Polypeptide schließen als ein primäres Beispiel ein jene Peptide, die Defekte oder mangelhafte Spezien in einem Tier kompensieren können, oder jene, die durch toxische Effekte wirken, um schädliche Zellen aus dem Körper zu begrenzen oder zu beseitigen. Zusätzlich schließen die Polypeptide oder Proteine, die in die Polymerbeschichtung 130 eingearbeitet werden oder deren DNA eingearbeitet werden kann, ohne Begrenzung ein, angiogenische Faktoren, einschließlich säurehaltiger und basischer Fibroblastwachstumsfaktoren, Gefäßendothelialwachstumsfaktor, Epidermalwachstumsfaktor, Transformierungswachstumsfaktor  $\alpha$  und  $\beta$ , blutplättchenabgeleiteter Enotheialwachstumsfaktor, blutplättchenabgeleiteter Wachstumsfaktor, Tumornekrosisfaktor  $\alpha$ , Hapatocytwachstumsfaktor und insulinähnlicher Wachstumsfaktor; Wachstumsfaktoren; Zellzyklushemmer einschließlich CDK-Hemmer; Thymadinkinase („TK“) und andere Wirkstoffe, die hilfreich sind beim Auswirken auf Zellproliferation, einschließlich Wirkstoffen

zur Behandlung von Bösartigkeiten; und Kombinationen davon. Weitere andere nützliche Faktoren, die als Polypeptide oder als DNA, diese Polypeptide verschlüsselnd, vorgesehen werden können, schließen einseitiges chemoanziehendes Protein („MCP-1“) und die Familie von knochenmorphogenischen Proteinen („BMP's“) ein. Die bekannten Proteine schließen BMP-2, BMP-3, BMP-4, BMP-5, BMP-6 (Vgr-1), BMP-7 (OP-1), BMP-8, BMP-9, BMP-10, BMP-11, BMP-12, BMP-13, BMP-14, BMP-15 und BMP-16 ein. Gegenwärtig bevorzugte BMP's sind irgendwelche von BMP-2, BMP-3, BMP-4, BMP-5, BMP-6 und BMP-7. Diese dimerischen Proteine können bereitgestellt werden als Homodimere, Heterodimere oder Kombinationen davon, alleine oder zusammen mit anderen Molekülen. Alternativ oder zusätzlich können Moleküle vorgesehen werden, die in der Lage sind, einen Upstream- oder Downstream-Effekt von einem BMP einzuleiten. Solche Moleküle schließen irgendwelche von den „Hedgehog“-Proteinen oder den DNA's, die diese verschlüsseln, ein.

**[0024]** In einer beispielhaften Ausführungsform der vorliegenden Erfindung hat das medizinische Gerät rekombinante Nukleinsäure darin eingearbeitet, worin die rekombinante Nukleinsäure einen viralen Vektor aufweist, der dazu verbunden eine exogene Nukleinsäurensequenz aufweist. „Exogene Nukleinsäurensequenz“ ist hierin verwendet, um eine Sequenz von Nukleinsäuren, die exogen zu dem Virus ist, von dem der Vektor abgeleitet wurde, zu bezeichnen. Die Konzentration des viralen Vektors, bevorzugterweise eines adenoviralen Vektors, ist zumindest ungefähr  $10^{10}$  plaquebildende Einheiten („p.f.u.“) pro Milliliter („ml“), bevorzugterweise zumindest ungefähr  $10^{11}$  p.f.u. pro Milliliter. Alternativ wird die Konzentration des viralen Vektors durch die Konzentration begrenzt, die in einer unerwünschten Immunreaktion von einem Patienten resultiert.

**[0025]** Nachdem der therapeutische Wirkstoff in das aufblasbare Teil **120** oder die Beschichtung **130** eingearbeitet ist, wird das medizinische Gerät **100** in den Körper eingeführt und an einem Zielort positioniert durch eine Körperhöhlung oder ein Gefäß (z.B. Koronararterien, Portalvene, Ileofemoralvene, usw.) durch Drehen oder andere bekannte Techniken. Sobald das medizinische Gerät **100** an einem Zielort innerhalb des Körpers positioniert ist, wird das expandierbare Teil **120** wahlweise expandiert, und das Arzneimittel wird freigesetzt bei einem Druck von nicht mehr als ungefähr 5 Atmosphären, bevorzugterweise nicht mehr als ungefähr 1 Atmosphäre und stärker bevorzugt nicht mehr als ungefähr 0,1 Atmosphären. Das medizinische Gerät **100** wird an dem Zielort gehalten für eine Zeidauer von nicht mehr als ungefähr 5 Minuten, bevorzugterweise nicht mehr als ungefähr 2 Minuten und stärker bevorzugt nicht mehr als ungefähr 1 Minute. Nach der Zufuhr wird das medizinische Gerät **100** aus dem Körper durch bekannte Techniken entfernt.

**[0026]** In einer Ausführungsform schließt das medizinische Gerät **100** der vorliegenden Erfindung einen Stent **300** (Fig. 3) zur Platzierung in einem Körperlumen ein. Die vorliegende Erfindung kann so verwendet werden für den zweifachen Zweck der lokalen Arzneimittelzufuhr und der Stenteinbringung. Wie in der Technik bekannt, sind Stents röhrenartige Stützstrukturen, die innerhalb röhrenartiger Organe, Blutgefäßen oder anderen röhrenartigen Körperlumen implantiert werden. Der mit der vorliegenden Erfindung verwendete Stent ist von irgendeinem geeigneten Design und ist entweder selbst-expandierend oder ballon-expandierbar. Der Stent ist hergestellt aus irgendeinem geeigneten metallischen (z.B. rostfreier Stahl, Nitinol, Tantal, usw.), polymerischen (z.B. Polyethylenterephthalat, Polyacetal, polylaktischer Säure, Polyethylenoxid-Polybutylenterephthalat-Copolymer, usw.) oder biologisch abbaubaren Material. Der Stent **300** ist bevorzugterweise metallisch und konfiguriert in einem Netzdesign, wie in Fig. 3 dargestellt. Wenn mit der vorliegenden Erfindung verwendet wird, wird der Stent **300** über das expandierbare Teil **120** des Katheters **110** platziert. Das medizinische Gerät **100** wird danach an einen Zielort innerhalb des Körpers geliefert. Bei dieser Ausführungsform befindet sich der Zielort innerhalb eines Körperlumens. Wenn der expandierbare Teil **120** während der Freigabe des Arzneimittelwirkstoffs von innerhalb des expandierbaren Teils **120** oder der Polymerbeschichtung **130** expandiert, wird der Stent **300** ebenfalls expandiert. Nachdem der Arzneimittelwirkstoff freigegeben worden ist von dem expandierbaren Teil **120** oder der Polymerbeschichtung **130**, wird das expandierbare Teil **120** komprimiert oder entleert. Der Stent **300** verbleibt jedoch in seinem expandierten Zustand innerhalb des Körperlumens.

**[0027]** Bezugnehmend auf die in Fig. 4 dargestellte Ausführungsform der Erfindung ist das expandierbare Teil **120** des Katheters **110** wahlweise durch eine Schutzhülse **210** bedeckt, während das medizinische Gerät **100** in den Körper eingeführt wird und positioniert wird an einem Zielort innerhalb eines Körperlumens **200**. Eine solche Hülse ist besonders vorteilhaft in dem Fall von langen, arteriellen Transitzeiten (d.h. um den Katheter an dem Zielort zu positionieren) oder wenn der zuzuführende therapeutische Wirkstoff hoch-toxisch ist. Wenn das expandierbare Teil **120** an einem verstopften Zielgebiet **220** positioniert ist, wird die Schutzhülse **210** zurückgezogen, um das expandierbare Teil **120** auszusetzen und so die Diffusion des therapeutischen Wirkstoffs in das Zielgebiet **220** zu erlauben. Alternativ verbleibt die Hülse **210** stationär, während der Katheter **110** das expandierbare Teil **120** vorwärts in das verstopfte Gebiet bewegt. Die Hülse **210** schützt das Arzneimittel und die Beschichtung **130**, so verhindernd, dass der therapeutische Wirkstoff vorzeitig freigesetzt wird.

**[0028]** In einer Ausführungsform, die nicht beinhaltet ist innerhalb des Bereichs der angehängten Ansprüche, ist das medizinische Gerät ein Nadelinjektionskatheter anstelle eines Ballonkatheters. In dieser Ausführungsform wird der therapeutische Wirkstoff zu einem Gewebe atraumatisch über eine relativ kurze und klinisch relevante Zeitperiode zugeführt, typischerweise in der Größenordnung von mehreren Sekunden, durch Injektion eines kleinen Volumens (d.h. ungefähr 0,001 bis ungefähr 1 ml) einer im Wesentlichen gesättigten Lösung eines therapeutischen Wirkstoffs. Weil die Lösung im Wesentlichen gesättigt ist, treibt der Konzentrationsgradient des therapeutischen Wirkstoffs, der von der Injektion herrührt, den therapeutischen Wirkstoff tief in das Gewebe durch Diffusion. Daher, im Gegensatz zu konventionellen, lokalen Arzneimittelzuführtechniken, die Infusionsdruck und Volumen verwenden, um das Arzneimittel tief in Gewebe zu treiben, erzielt das Verfahren der vorliegenden Erfindung tiefe Gewebepenetration durch einen konzentrationsgetriebenen Mechanismus. Folglich erlaubt das Verfahren der vorliegenden Erfindung die Injektion von therapeutischen Wirkstoffen in Gewebe bei niedrigen Drücken, wie z.B. einer Atmosphäre oder weniger, und mit kleinen Volumina. Ein Vorteil dieser Ausführungsform gegenüber konventionellen Techniken ist, dass der niedrige Infusionsdruck Gewebeschäden minimiert, daher resultierend in einer potentiellen Erhöhung der Wirksamkeit, Transfektionseffizienz oder ähnlichem.

**[0029]** Nützliche, therapeutische Anwendungen auf die die vorliegende Erfindung angewendet werden kann, schließen ohne Begrenzung ein Verfahren zur Behandlung, Verbessern, Reduzieren und/oder Hemmen irgendeiner Lumen- oder Gewebeverletzung, einschließlich jener, die in einem Denudieren der Innenwand eines Lumens resultieren, namentlich seiner endothelialen Auskleidung, einschließlich der Auskleidung von einem Blutgefäß, Urethra, Lunge, Kolon, Urethra, Gallenbaum, Esophagus, Prostata, Eileiter, Uterus, Gefäßpropfen oder ähnliches. Solche Verletzungen resultieren von Krankheiten wie in dem Fall von Atherosklerose oder urethrale Hyperplasia (Verengungen) und/oder von mechanischen Verletzungen, z.B. durch Einsatz eines endoluminalen Stents oder eines katheterbasierten Gerätes, einschließlich Ballonangioplastie und verwandten Geräten.

**[0030]** Gefäßtherapien, die von den hierin offebarten Verfahren profitieren, schließen ohne Einschränkung ein, Kardiomyopathien, Herz- und Hirnschläge, Embolien, Aneurysmen, Athereosklerosen und periphere und Herzschämien. Zufuhr von Genen, die Proteine verschlüsseln, die befähigt sind kollaterale Blutgefäßbildung zu induzieren, können zum Vorteil bei der Behandlung dieser Störungen verwendet werden. Zufuhr von Genen, die Proteine verschlüsseln, die in der Lage sind, sich auf neointimale (Glattmuskel-) Zellenproliferation auszuwirken, ist ebenfalls besonders hilfreich bei der Behandlung von Restenosis.

**[0031]** Nicht-Gefäß-Therapien, die von den Verfahren, die hierin offenbart sind, profitieren, schließen ein, urogenitale Anwendungen, einschließlich Therapien für Inkontinenz, Nierensteine und ähnliches. Hier werden Geräte typischerweise für eine vorbestimmte Zeitspanne implantiert, und die lokale Zufuhr von genetischen oder chemischen Wirkstoffen, die geeignet sind, einen antibakteriellen, entzündungshemmenden oder Antiverkrustungseffekt zu induzieren, ist vorteilhaft. Bei anderen Anwendungen wird die Zufuhr von entzündungshemmenden Wirkstoffen, genetischen oder anderen, verwendet, um Prostatitis, interstitielle Zystitis und andere urogenitale Entzündungsstörungen zu behandeln. Antiproliferative Wirkstoffe, genetische oder andere, können ebenfalls bei Endometriosis-Therapien verwendet werden. Weiterhin ist eine andere Anwendung die Zufuhr von Antikrebswirkstoffen, genetisch oder anders. Das System kann angewendet werden auf Therapien für Blasen-, Prostata- und Gebärmutterkrebs. Ähnlich kann die Zufuhr von Wirkstoffen in das Innere der Lunge zur Behandlung von Lungenstörungen, einschließlich Krebs, zystischer Fibrose und ähnlichem zum Vorteil verwendet werden.

**[0032]** Das System der vorliegenden Erfindung kann ebenfalls verwendet werden für die Zufuhr von diagnostischen und/oder bildgebenden Wirkstoffen, einschließlich Ultraschallkontrastwirkstoffen wie Perfluorokarbon. Andere Kontrastwirkstoffe sind denen, die in der Technik bewandert sind, wohlbekannt. Der Kontrastwirkstoff ist typischerweise eine Mikroblase, die in einen Lipid-, lipidähnlichen oder Proteinmantel zur katheterbasierten Zufuhr eingeschlossen ist. Die Mikroblase kann weiterhin einen gewebezielenden Wirkstoff auf ihrer Oberfläche aufweisen. Die Mikroblase wird zerrissen oder anderweitig erkannt, unter Verwendung von Ultraschallsteigerung, sobald sie an den Ort von Interesse geliefert ist. Der Kontrastwirkstoff kann ebenfalls mit einem therapeutischen Wirkstoff, genetisch oder anders, kombiniert werden, der dann geliefert wird, wenn die Blase durch Ultraschallsteigerung zerplatzt wird. Die Zufuhr an große Oberflächengebiete wie Lungen und Uterusinnenräume kann von diesem Protokoll profitieren.

**[0033]** Penetrationsförderer werden optional in jeder Ausführungsform der vorliegenden Erfindung verwendet. Wie in der Technik bekannt ist, sind Penetrationsförderer Substanzen oder Prozesse, die den Transport von gelösten Stoffen durch biologische Membranen fördern. Wenn verwendet in Übereinstimmung mit der vor-

liegenden Erfindung, erhöhen Penetrationsförderer weiter die Rate der Penetration von therapeutischen Wirkstoffen in Gewebe, daher wird ein effizienterer Arzneimitteltransfer ermöglicht. Übliche Klassen von Penetrationsförderern schließen ein, chelatbildende Wirkstoffe wie EDTA, Zitronensäure, Salicylate, Ableitungen von Kollagen und Diketonen; Tenside wie SDS und Polyoxyethylen-9-Lauryl-Äther; Nicht-Tenside wie ringförmige Urease, 1-Alkyl- und 1-Alkenylazacycloalkanoneableitungen; Gallensalze und Ableitungen wie Natriumdeoxycholat, Natrium, Taurocholat, STDHF und Natriumglykodihydrofusidat; Fettsäuren und Ableitungen wie Ölsäure, Caprylsäure, Caprinsäure, Acylkarnitin, Acylcholin und Mono- und Diglyceride; bivalente und polyvalente Kationen; und Enzyme wie Elastase. Alternativ schließt ein Penetrationsförderer, der in Verbindung mit der vorliegenden Erfindung verwendet wird, einen Prozess wie Ultraschall, das Anlegen eines elektrischen Feldes und/oder andere Prozesse, die die Rate der Penetration von therapeutischen Wirkstoffen in Gewebe erhöhen.

**[0034]** Die Erfindung wird weiterhin beschrieben mit Bezugnahme auf die folgenden nicht-beschränkenden Beispiele.

#### Beispiele

**[0035]** Alle hierin beschriebenen Beispiele wurden ausgeführt für die in vivo-Zufuhr von einem adenoviralen Transgen. Das verwendete Transgen war eine rekombinanznuklear-spezifische  $\beta$ -Galaktosidase unter der Kontrolle des Zytomegalovirusförderer. Viraltiter wurde gemessen durch eine Standardplaqueprobe unter Verwendung von 293 Zellen. Virallösungen wurden auf Eis getaut und zu angemessenen Konzentrationen mit Salzlösung verdünnt. Die Virallösungen wurden direkt nach Verdünnung verwendet.

**[0036]** Weiße Neuseelandkaninchen (3,5 bis 4,0 kg) wurden anästhesiert mit Ketamin (10 mg/kg) und Acepromazin (0,2 mg/kg) folgend auf eine Vorbehandlung mit Xylazin (2 mg/kg). Die zweiseitige Arteria iliaca externa wurde für alle Experimente verwendet. Eine 5-französische-(„Fr.“)-Einführungshülse wurde in der rechten Halsschlagader unter der operativen Öffnung positioniert. Ein Angioplastiekatheter wird durch die Einführungshülse zu der unteren abdominalen Aorta unter fluoroskopischer Führung eingeführt. Angiographie der Arteria iliaca externa wird durchgeführt unter Verwendung von 2 ml eines nicht-ionischen Kontrastmediums. Die Kaninchengewichte werden beobachtet, da sie innerhalb von 3,5 bis 4,0 kg bleiben, um ein Ballon-zu-Arterien-Verhältnis von ungefähr 1,2:1 sicherzustellen. Die Arterien wurden von Endothelium befreit, durch Durchführen einer dreifachen Aufblasverletzung vor der Zuführung. Verletzung wurde durchgeführt unter Verwendung eines 2,0 cm-, 3,0 mm-Durchmesser-Ballonkatheters, der mit einem 0,014 Inch-Führungsstab über die rechte Halsschlagader entweder in die rechte oder linke Arteria iliaca externa eingeführt wird. Der Katheter wurde aufgeblasen zu einem Druck mit 50%-Verdünnung eines Kontrastmediums bei 6 atm, drei Mal für eine Minute pro Aufblasung. Nach Behandlung einer Arteria iliaca wurde die contralaterale Arteria iliaca mit einem neuen Ballonkatheter behandelt.

**[0037]** Replikationsdefiziente Adenoviral-Vektorgenzufuhr wurde in vivo erzielt unter Verwendung sowohl von infusionsartigen, lokalen Zufuhrkathetern als auch hydrogelbeschichteten Angioplastiekathetern. Die infusionsbasierten Geräte wurden verwendet, um virale Partikel zu der Gefäßwand durch druckgetriebene Konvektion kombiniert mit konzentrationsgetriebener Diffusion zu liefern. Transmuraler hydraulischer Druck wurde an den Gefäßwänden erzeugt und moduliert unter Verwendung dieser Geräte durch Infusion der viralen Lösung unter einem bekannten angelegten Druck. Zwei Infusionsgeräte wurden verwendet, um Druck bei einer konstanten Zufuhrzeit zu modulieren: der kanalisierte Ballonkatheter (Boston Scientific Corporation, Natick, MA) wurde verwendet für niedrige bis moderate Infusionsdrücke, und der Transportkatheter (Boston Scientific Corporation, Natick, MA) wurde verwendet für Hochdruckinfusionen. Konzentration wurde moduliert bei einem konstanten Infusionsdruck von näherungsweise 0,1 atm. Zusätzlich wurden hydrogelbeschichtete Angioplastieballone verwendet, um Virus zu den Gefäßwänden zu liefern, durch einen ausschließlich konzentrationsgetriebenen Diffusionsmechanismus. Die hydrogelbeschichteten Angioplastieballone waren mit einem vernetzten Polyacrylsäurepolymer beschichtet.

#### Beispiel 1 – Zufuhr mit einem kanalisierten Ballonkatheter

**[0038]** Replikationsdefiziente adenovirale Vektorgenzufuhr wurde in vivo unter Verwendung eines kanalisierten Ballonkatheters erzielt, 2,0 cm in Länge und 3,0 mm im Durchmesser. Der Katheter wurde mit einem 0,014 Inch-Führungsstab über die rechte Halsschlagader entweder in die rechte oder linke Arteria iliaca externa eingeführt. Der Ballon wurde aufgeblasen zu einem nominalen Druck von ungefähr 6 atm, wobei Genzufuhr bei einem Infusionsdruck von ungefähr 0,1 oder 3 atm erzielt wurde. Entweder 3 ml, 500 Mikroliter („ $\mu$ “) oder 200  $\mu$ l einer viralen Lösung wurden durch den Infusionsanschluss des Katheters infundiert unter Verwendung einer 1 ml- oder 5 ml-Spritze. Infusionen von 3 ml waren notwendig, um höhere Infusionsdrücke zu erzeugen. Die

Lösung wurde langsam über ungefähr 2 Minuten infundiert, während der Infusionsdruck überwacht wurde unter Verwendung eines Online-Drucktransduktors. Die Ballone wurden entleert und entfernt nach entweder 2 oder 30 Minuten verstrichener Zeit nach Positionierung des Katheters an dem Zielort.

Beispiel 2 – Zufuhr mit einem Transportkatheter

**[0039]** Virale Lösungen wurden lokal bei hohem Druck infundiert unter Verwendung eines Transportkatheters, 2,0 cm in Länge und 3,0 mm im Durchmesser. Der Katheter wurde eingeführt mit einem 0,014 Inch-Führungs-kabel über die rechte Halsschlagader in entweder die rechte oder linke Arteria iliaca externa. Der Ballon wurde zu einem nominalen Druck von ungefähr 6 atm aufgeblasen, wobei Genzufuhr bei einem Infusionsdruck von ungefähr 8 atm erzielt wurde. Ungefähr 3 ml einer viralen Lösung wurden infundiert durch den Infusionsanschluss des Katheters unter Verwendung einer 5 ml-Spritze. Die Lösung wurde langsam über ungefähr 2 Minuten infundiert, während der Infusionsdruck überwacht wurde unter Verwendung eines Online-Drucktransduktors. Die Ballone wurden nach ungefähr 2 Minuten entleert und entfernt.

Beispiel 3 – Zufuhr mit einem hydrogelbeschichteten Ballonkatheter

**[0040]** Der Virus wurde angewendet auf die Hydrogelbeschichtung von Angioplastieballonenen durch langsames Auftragen von 25  $\mu$ l einer  $1,7 \times 10^{11}$  pfu/ml-adenoviralen  $\beta$ -Galaktosidase-Stammlösung (replikationsdefizienter Adenovirus tragend das E-Coli- $\beta$ -Galaktosidasegen) auf die Beschichtung unter Verwendung einer Mikropipette. Ein 2,0 cm langer, 3,0 mm Durchmesser, geladener, hydrogelbeschichteter Ballonkatheter wurde innerhalb einer Schutzhülse platziert und auf 2 atm aufgeblasen. Die gesamte Anordnung wurde über ein 0,014 Inch-Führungs-kabel über die rechte Halsschlagader zu der Bifurkation befördert, die zu der Iliaca externa führt. Der Ballon wurde dann entleert und schnell weiter entweder zu der rechten oder linken Arteria iliaca externa befördert. Virale Zufuhr wurde erlaubt für entweder 2 oder 30 Minuten aufzutreten.

Vergleich der Beispiele 1 bis 3

**[0041]** Drei Tage nach Transfektion wurden Iliaca-Arterien direkt nach Perfusion mit heparinierter 0,9%-Salzlösung über die untere Abdominalaorta geerntet. Die geernteten Gefäße wurden mit kalter phosphat-gepufferter Salzlösung (PBS) gewaschen, fixiert in 1%-Paraformaldehyd für 10 min, gewaschen in PBS-Postfixation.  $\beta$ -Galaktosidaseaktivität wurde bewertet durch Ausbrüten von Arterien in X-GAL-Chromogen über Nacht bei 37°C. Nach Verfahrung wurden Gefäße in PBS gewaschen und nachfixiert in 1%-Paraformaldehyd.

**[0042]** Die Gefäße wurden longitudinal geöffnet und durch ein Sezermikroskop für Grobbewertung photographiert. Die dunkelblau verfärbten Stellen wurden als transfektierte Gebiete betrachtet. Die Zielzone, üblicherweise bei oder nahe an dem Zentrum des Zielgebietes wurde quer geschnitten und nachfolgend prozessiert für histologische Analysen. Probestücke wurden in Paraffin eingelegt, unterteilt in 5  $\mu$ m-Abschnitte und gegengefärbt mit Hematoxylin und Eosin. Scheiben wurden durch Lichtmikroskopie untersucht nach Ausdruck von dem LacZ-Transgenprodukt, nuklearer  $\beta$ -Galaktosidase und wurden nur als positiv betrachtet, wenn dunkelblaue Verfärbung beobachtet wurde. Die Transfektionseffizienz wurde bestimmt durch Zählen gefärbter gegenüber gesamtdurchschnittlicher Zellkerne in jedem arteriellen Abschnitt.

Effekt von angelegtem Druck auf Transfektion

**[0043]** Wie in Tabelle I gezeigt, wirken sich Drücke von 3 und 8 atm nicht signifikant auf virale Zufuhr von infusionsbasierten Geräten aus. Transfektionseffizienz von einer 3 ml-viralen Lösung war  $2,30 \pm 0,64\%$ , wenn bei näherungsweise 3 atm infundiert wurde, und  $1,05 \pm 0,21\%$ , wenn bei einem mittleren Druck von 8 atm infundiert wurde, unter jeweiliger Verwendung eines kanalisierten und eines Transportkatheters.

Tabelle I. Einfluss von Infusionsvolumen und Druck auf virale Transfektionseffizienz.

Gerät	infundierte konz. (pfu/ml)	virale Dosis (pfu)	Infusions-volumen (ml)	Infusions-druck (atm)	% Trans duktion
Hydrogel	N/A	$4,3 \times 10^9$	N/A	N/A	$2,04 \pm 0,75$
Kanal	$1,7 \times 10^9$	$5,1 \times 10^9$	3	3	$2,30 \pm 0,64$
Transport	$1,7 \times 10^9$	$5,1 \times 10^9$	3	8	$1,05 \pm 0,21$

p = NS für alle Kombinationen

[0044] Ein vergleichbares Niveau von Gentransfektion,  $2,04 \pm 0,75\%$ , wurde bei einem hydraulischen Druck von null erreicht (kein Infusionsvolumen), wenn der Virus passiv von einem hydrogelbeschichteten Ballon zugeführt wurde, was einen Hinweis liefert, dass molekulare Diffusion eher als Konvektion der dominante Mechanismus für Viraltransport in der Gefäßwand ist. Es wurde festgestellt, dass virale Infusionsvolumen und Druck keinen statistisch signifikanten Effekt (p = nicht signifikant („NS“)) auf Transfektionseffizienz unter jeder in Tabelle 1 getesteten Bedingung haben (alle Daten wurden verglichen durch eine Einweganalyse von Variablen).

#### Effekt von Infusionsvolumen auf Zellularität

[0045] Zellularität wurde bewertet in 5 Mikrometer-histologischen Querschnitten durch Zählen der Anzahl von Zellkernen, die durch Hematoxylin und Eosin gefärbt waren. Zellularität wird ausgedrückt als die Anzahl von Zellkernen pro Querschnitt. Die höheren Zufuhrvolumina und folglich höheren Infusionsdrücke von kanalisierten und Transportballonkathetern resultieren in einem signifikanten Verlust von Zellularität in dem behandelten Segment, wie in Tabelle II gezeigt.

Tabelle II. Einfluss von Zufuhrparametern auf Zellularität.

Gerät	Infusions-volumen (ml)	Infusions-druck (atm)	Zellularität
kein <sup>1</sup>	0	0	$845 \pm 34$
Hydrogel <sup>2</sup>	N/A	N/A	$833 \pm 17$
Kanal <sup>3</sup>	0,2	0,1	$800 \pm 22$
Kanal <sup>4</sup>	0,5	0,1	$863 \pm 24$
Kanal <sup>5</sup>	3	3	$592 \pm 38$
Transport <sup>6</sup>	3	8	$600 \pm 34$

<sup>#</sup> p < 0,05 für 1, 2, 3, 4 gegenüber 5, 6

[0046] Abschnitte von diesen Arterien demonstrieren eine Reduktion der mittleren Glattmuskelzellanzahl, wie angezeigt durch einen Verlust von sichtbaren Zellkernen für Gefäße, die mit 3 ml einer viralen Lösung behandelt wurden. Im Gegensatz zeigten Infusionsvolumina von 500 µl oder weniger keinerlei erkennbare schädliche Effekte auf Gefäßwandzellularität.

#### Effekt von Konzentration auf Transfektion

[0047] Der Effekt von einer angewendeten Konzentration auf in vivo-Genzufuhr wurde untersucht durch Zuführung von 500 µl einer viralen Lösung bei drei Konzentrationen,  $1,7 \times 10^{10}$ ,  $5,6 \times 10^{10}$  und  $1,7 \times 10^{11}$  pfu/ml, bei einem Infusionsdruck von 0,1 atm. Transfektion erhöhte sich um eine Größenordnung von  $1,8 \pm 0,4\%$  auf

$17,8 \pm 3,2\%$ , direkt proportional zu der Erhöhung der viralen Konzentration von  $1,7 \times 10^{10}$  auf  $1,7 \times 10^{11}$  pfu/ml. Solche Transfektionsniveaus werden für in vivo- $\beta$ -Galaktosidase als hoch betrachtet, wegen der Gegenwart von endogenen Hemmern. Histologische Verfärbung von diesen Arterien demonstrierte eine größere Zahl von gefärbten blauen Zellen tiefer in dem Medium bei der höheren Konzentration von zugeführtem Virus, relativ zu der niedrigen Konzentration. Frühere Studien (Schulick et al., „In vivo Gene Transfer into Injured Carotid Arteries. Optimization and Evaluation of Acute Toxicity“, 91. Auflage 2407–14 (1995)) haben eine toxische Reaktion in der Gefäßwand demonstriert, wenn  $1 \times 10^{11}$  pfu/ml einer adenoviralen  $\beta$ -Galaktosidase zu Rattenhalsschlagadern zugeführt wurden. Hier haben die Erfinder überraschenderweise gezeigt, dass der kanalisierte Ballonkatheter verwendet werden kann, um virale Lösungen an Iliaca-Arterien von Kaninchen bei viralen Konzentrationen so hoch wie  $1,7 \times 10^{11}$  pfu/ml zuzuführen, ohne einen nachteiligen Effekt auf Zellularität und mit keiner erkennbaren Entzündungsreaktion.

#### Effekt von Zufuhrzeit auf Transfektion

**[0048]** Der Effekt von Zufuhrzeit auf Gentransfektion wurde untersucht unter Verwendung von hydrogelbeschichteten Ballonen. Die Ballone wurden in Kontakt mit der Gefäßwand für entweder 2 oder 30 Minuten gelassen. Wie in Tabelle III gezeigt, war die Transfektionseffizienz jeweils  $1,57 \pm 0,05\%$  und  $2,04 \pm 75\%$  für Zufuhr bei 30 Minuten und 2 Minuten. In einem bezogenen Satz von Experimenten wurden 200  $\mu$ l einer viralen Lösung durch einen kanalisierten Ballonkatheter über 2 Minuten infundiert, gefolgt durch keine Inkubation oder einer 30 Minuten-Inkubation, wobei der Ballon aufgeblasen blieb. Transfektion war jeweils  $2,53 \pm 0,44$  und  $2,00 \pm 0,52$  für Zufuhr mit oder ohne einer 30-minütigen Inkubation.

Tabelle III. Einfluss von Zufuhr und Inkubationszeit auf virale Transfektionseffizienz

Gerät	infundierte konz. (pfu/ml)	virale Dosis (pfu)	Zufuhrzeit (min)	Inkubationszeit (min)	% Transduktion
Hydrogel <sup>1</sup>	N/A	$4,3 \times 10^9$	2	0	$2,04 \pm 0,75$
Hydrogel <sup>2</sup>	N/A	$4,3 \times 10^9$	30	0	$1,57 \pm 0,05$
Kanal <sup>3</sup>	$26 \times 10^9$	$5,1 \times 10^9$	2	0	$2,52 \pm 0,44$
Kanal <sup>4</sup>	$26 \times 10^9$	$5,1 \times 10^9$	2	30	$2,00 \pm 0,52$

\* p = NS für 1 gegenüber 2 und 3 gegenüber 4

#### Beispiel 4

**[0049]** In Übereinstimmung mit einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird Heparin lokal zugeführt unter Verwendung eines infusionsartigen Ballons, wie z.B. in einem kanalisierten Ballonkatheter. Eine im Wesentlichen gesättigte Lösung von Heparin, die eine Konzentration von ungefähr 1 Gramm pro 20 ml von Wasser aufweist, wird infundiert an einem Zielort für ungefähr 2 Minuten bei einem Druck von ungefähr 0,1 atm. Unter Verwendung dieses Ansatzes können relativ geringe Volumina von ungefähr 1 ml infundiert werden, um ein therapeutisches Resultat zu erzielen, im Vergleich zu den relativ höheren Volumina und Drücken, die bei konventionellen Techniken verwendet werden.

#### Beispiel 5

**[0050]** In Übereinstimmung mit einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird Verapamil lokal zugeführt unter Verwendung eines infusionsartigen Ballons, wie z.B. in einem kanalisierten Ballonkatheter. Eine im Wesentlichen gesättigte Lösung von Verapamilhydrochlorid, das eine Konzentration von ungefähr 62 mg/ml (d.h. ungefähr 75% der Grenzlöslichkeit von 82 mg/ml für Verapamilhydrochlorid in Wasser) aufweist, wird an einen Zielort infundiert für ungefähr 2 Minuten bei einem Druck von ungefähr 0,1 atm. Unter Verwendung von diesem Ansatz können relativ kleine Volumina von ungefähr 1 ml infundiert werden, um ein therapeutisches Resultat zu erzielen, im Vergleich zu den relativ höheren Volumina und Drücken, die bei konventionellen Techniken verwendet werden.

**[0051]** Mittels der vorliegenden Erfindung wurde gezeigt, dass eine 2-minütige, klinisch relevante Zufuhrzeit effektiv ist, um hohe Niveaus von in vivo-Gentransfektion zu erreichen. Während frühere Studien Zufuhrzeiten größer als 20 Minuten oder eine zusätzliche 30-minütige Inkubationsperiode nach Zufuhr von einem Infusionsgerät, wie z.B. einem Kanalballonkatheter, verwendet haben, haben die gegenwärtigen Erfinder gezeigt, dass eine 2-minütige Zufuhrzeit mindestens so effizient oder effizienter ist als 30-minütige Zufuhrzeiten. Da molekulare Diffusion zeitabhängig ist, können längere Zufuhrzeiten einen positiven Effekt unter anderen Bedingungen haben, wie z.B. höheren viralen Dosen. Zusätzlich wurde gezeigt, dass eine 30-minütige Inkubationsperiode nach viraler Zufuhr von einem Infusionsgerät, d.h. einem Kanalballonkatheter, keinen signifikanten Effekt auf Genexpression hat. Daher, sobald die Arterie rückdurchschwemmt ist und der Konzentrationsgradient umgekehrt ist, diffundiert der Virus nicht zurück in das Lumen. Wie die Erfinder gezeigt haben, sind lange Zufuhrzeiten und ausgedehnte Inkubationsperioden nicht notwendig für effektive Gentransfektion, sobald die Bedingungen für ein bestimmtes Zufuhrgerät optimiert wurden.

#### Beispiel 6 – Zufuhr mit einem Nadelinjektionskatheter

**[0052]** Rekombinante, replikationsdefiziente Adenovirale Partikel, die das Gen für  $\beta$ -Galaktosidase verschließen, wurden in Herzmuskeln von Schweinen unter Verwendung eines Nadelinjektionskatheters injiziert. Ein Volumen von 100  $\mu\text{l}$  einer viralen Lösung wurde injiziert bei einer Konzentration von  $1 \times 10^9$  pfu/ml, und die Resultate wurden mit jenen verglichen, die unter Verwendung von 100  $\mu\text{l}$ -Dosis-Injektion bei  $1 \times 10^{10}$  pfu/ml erhalten wurden. Größere Penetration des Virus wurde beobachtet mit der höheren Konzentrationsinjektion, so demonstrierend größere Diffusion des Virus aufgrund des entsprechend höheren Konzentrationsgradienten. Weiterhin demonstrierte die höhere Konzentrationsinjektion größere Transfektion verglichen mit 250  $\mu\text{l}$ -Injektionen bei niedrigeren Konzentrationen von  $1 \times 10^9$  pfu/ml, so demonstrierend, dass hohe Volumina nicht notwendig sind, um höhere Grade von Transfektion zu erzielen.

**[0053]** Die Erfinder haben demonstriert, dass virale Partikel arterielles Gewebe in einer Art und Weise analog zu einem molekularen Diffusionsmechanismus penetrieren. Übereinstimmend mit dieser Erkenntnis haben die Erfinder festgestellt, dass Konzentration eines therapeutischen Wirkstoffs der kritische Parameter für Transport ist und so für Genexpression oder therapeutische Effekte in einer Gefäßwand. Die vorliegende Erfindung wird verwendet, um signifikante Transfektionsniveaus oder therapeutische Wirkstoffniveaus an einem lokalen Ort durch Zuführung eines kleinen Volumens einer konzentrierten therapeutischen Wirkstofflösung durch einen lokalen Zuführkatheter bei niedrigem Druck zu erzielen. Folglich haben die Erfinder festgestellt, dass Variationen im angelegten Druck, welcher konvektiven Transport treibt, keinen signifikanten Effekt auf Genexpression oder Arzneimittelzufuhr und/oder -aufnahme haben. Weiterhin haben die Erfinder herausgefunden, dass Genexpression auftritt, wenn eine virale Lösung in einem klinisch relevanten Zeitrahmen von 2 Minuten zugeführt wird, so anzeigen, dass längere Zeiten nicht notwendig sind, um effizienten Gentransfer zu erzielen.

#### Patentansprüche

1. System zur lokализierten Zufuhr eines therapeutischen Wirkstoffes an einen Zielort innerhalb einer Körperhöhle, eines Gefäßes oder eines Gewebes eines Säugetieres oder eines Menschen, umfassend:  
einen expandierbaren Katheter und  
einen therapeutischen Wirkstoff, der in dem expandierbaren Katheter inkorporiert ist oder auf der Oberfläche des expandierbaren Katheters per se oder als Teil einer Beschichtung aufbeschichtet ist,  
**dadurch gekennzeichnet**, dass  
der therapeutische Wirkstoff in einem Lösungsmittel als eine im Wesentlichen gesättigte Lösung aufgelöst ist mit einer Konzentration des therapeutischen Wirkstoffes in dem Lösungsmittel von wenigstens 75% der Grenzlöslichkeit des therapeutischen Wirkstoffes in dem Lösungsmittel.
2. System nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Konzentration des therapeutischen Wirkstoffes in der Lösung wenigstens ungefähr 80%, 85%, 90%, 95% oder 100% der Grenzlöslichkeit des therapeutischen Wirkstoffes in dem Lösungsmittel beträgt.
3. System nach Anspruch 1 oder 2, wobei der therapeutische Wirkstoff ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus pharmazeutisch-aktiven Zusammensetzungen, Proteinen, Oligonukleotiden, DNA-kompaktierenden Wirkstoffen, rekombinierenden Nukleinsäuren, Gen-/Vektorsystemen und Nukleinsäuren.
4. System nach Anspruch 1 oder 2, wobei der therapeutische Wirkstoff eine rekombinierende Nukleinsäure

ist, welche einen viralen Vektor umfasst, an dem eine exogene Nukleidsäuresequenz angekoppelt ist; und wobei die Konzentration des viralen Vektors wenigstens  $10^{10}$  Plaque-bildende Einheiten (p.f.u.) pro ml beträgt.

5. System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Katheter ein Ballonkatheter mit Kanälen ist.
6. System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Katheter ein Transportkatheter ist.
7. System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Katheter ein Infusionsmuffenkatheter ist.
8. System nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Katheter einen expandierbaren Abschnitt beinhaltet; und wobei der expandierbare Abschnitt mit einer Polymer-Beschichtung beschichtet ist, welche die im Wesentlichen gesättigte Lösung beinhaltet.
9. System nach Anspruch 8, wobei der expandierbare Abschnitt des Katheters optional mit einer Schutzhülse beschichtet ist.
10. System nach Anspruch 8 oder 9, wobei die Beschichtung ein Polymer umfasst, das ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus polykarboxylyischen Säuren, Zellulose-Polymeren, Gelatine, Polyvinylpyrrolidone, maleinsauren Anhydrid-Polymeren, Polyamiden, Polyvinyl-Alkoholen, Polyethylen-Oxiden, Glykosamin-Glykanen, Polysacchariden, Polyester, Polyurethanen, Silikonen, Polyorthoestern, Polyanhydriden, Polykarbonaten, Polypropylenen, polylaktischen Säuren, Polyglycol-Säuren, Polycaprolaktonen, Polyhydroxybutyrat-Valetranen, Polyacrylamiden, Polyethern, Polyurethan-Dispersionen, acrylsäuren Latex-Dispersionen und Mixturen und Copolymeren hiervon.
11. System nach einem der Ansprüche 5 bis 10, weiter umfassend einen Stent, der den Katheter wenigstens teilweise umgibt.

Es folgen 2 Blatt Zeichnungen

## Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein neues Mittel zur Antitumortherapie auf der Basis von liposomal verkapselten Cytostatika und/oder deren Metaboliten. Anwendungsgebiete der Erfindung sind die pharmazeutische Industrie und die Medizin.

5 Es sind mehrere Mittel für die Antitumortherapie bekannt. In DE 43 41 478 wurde ein Mittel beschrieben, das insbesondere zur Therapie nichtresektabler primärer und sekundärer Leberumoren verwendet werden kann. Dieses Mittel enthält lyophilisierte Stärkepartikel, die mit einem oder mehreren Cytostatika kombiniert werden und in jod-, gadolinium- oder magnetithaltigen Kontrastmitteln gelöst sind. Ein bevorzugtes Cytostatikum für dieses Mittel ist Carboplatin.

10 Mit dem Mittel gemäß 43 41 478 wird eine hohe Konzentration des eingesetzten Cytostatikums im zu behandelnden Tumor erreicht. Ein Nachteil besteht jedoch darin, daß die Verweilzeit im Tumor nur ca. 4–6 Stunden beträgt, was für eine erfolgreiche Therapie im allgemeinen nicht ausreicht.

Die Erfindung hat das Ziel, ein Drug-Targeting zur Krebsbekämpfung durch geeignete Carriersysteme aufzubauen. Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, die Anreicherung von Cytostatika im Tumor und die Verweilzeit im Tumor deutlich zu erhöhen. Gleichzeitig sollen toxische Nebenwirkungen auf die übrigen Organe herabgesetzt werden.

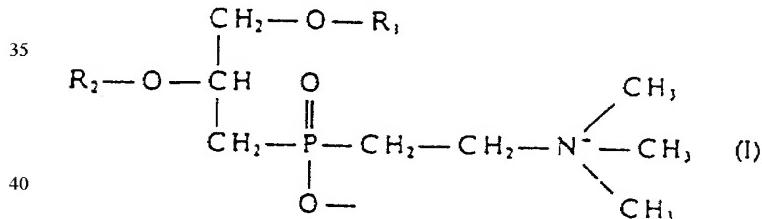
15 Die Erfindung wird gemäß den Ansprüchen 1 bis 11 realisiert. Wesentlicher Bestandteil der Erfindung ist die Verkapselung der eingesetzten Cytostatika und/oder deren Metaboliten, bevorzugt mit PEG-Liposomen. Von großer Bedeutung ist ferner der Einsatz von abbaubaren Stärkepartikeln, was zu einer Flußverlangsamung führt und damit die Kontaktzeit erhöht.

20 Die Verkapselung der Cytostatika erfolgt in an sich bekannter Weise, z. B. durch Herstellung eines Gemisches von Ei-phosphatidylcholin, Cholesterin, Dicetylphosphat und zusätzlich Polyethylenglycol in Chloroform und Diisoproptylether.

Gegenstand der Erfindung sind auch die pharmazeutischen Zubereitungen des ersten Bestandteils des erfindungsge-mäßen Mittels, die aus einem

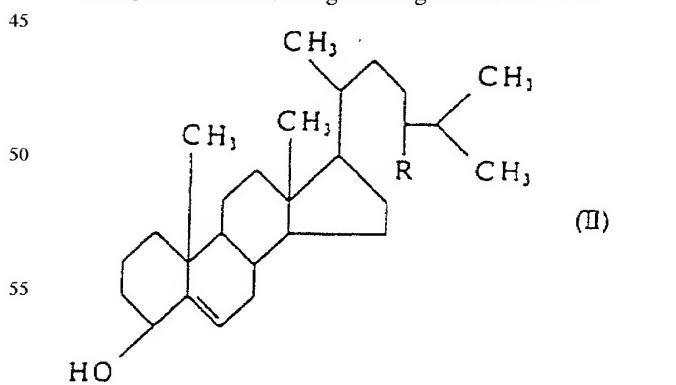
- 25 a) natürlichen, halbsynthetischen oder vollsynthetischen Amphiphil wie Lipid, Tensid, Emulgator oder Polyethy-lenglycol (PEG) bzw. Lipid-PEG,  
 b) einem Steroid,  
 c) einer geladenen Lipidkomponente,  
 d) dem wasser- oder lipidlöslichen Cystatikum und  
 30 e) einer Trägerflüssigkeit und ggf. zusätzlichen Hilfsstoffen, z. B. Nanopartikeln besteht.

Das natürliche, halbsynthetische oder vollsynthetische Amphiphil hat bevorzugt die allgemeine Formel I



worin  $R_1$  und  $R_2 = C_{10}-C_{20}$ -Alkanoyl, -Alkenoyl, Alkyl, -Alkenyl bedeuten.

Das Steroid hat bevorzugt die allgemeine Formel II



- 60 in der  $R = H$  (Cholesterin) oder  $= CH_2-CH_2-O-CH_2-CH_2-OH$  (Dicholesterin) bedeutet.

Die geladene Lipidkomponente ist bevorzugt das Anion des Dicetylphosphats, der Palmitinsäure, der Stearinsäure, das Anion eines Phospholipids, wie Phosphatidylserin, Phosphatidsäure oder das Anion eines Sphingolipids wie Sulfatid oder Polyethylenglycol wie MPES-DSPE.

Bevorzugte Cytostatika sind Carboplatin, 5-Fluoruracil und 5-Fluoruridin.

65 Die Mengenverhältnisse der Komponenten sind bevorzugt a : b : c im Molverhältnis 1 : 0, 3 : 0, 1 bis 1 : 1 : 0, 1 oder bis 1 : 1 : 0 : 5 und c : d im Molverhältnis 2 : 1 bis 10 : 1.

Die Vorteile des neuen Mittels werden bei der Anwendung sichtbar. Sie liegen in der gegenüber den bekannten Mitteln wesentlich erhöhten Wirksamkeit, was dadurch begründet ist, daß eine größere Menge des Cytostatikums in den Tumor

# DE 197 24 796 A 1

liten in

- Anti-CEA-PEG-Liposomen erfolgt.
- 5. Mittel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Stärkepartikel eine Korngröße von 60–90 nm aufweisen.
- 6. Mittel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß absorbierbare Gelatinepuder eingesetzt werden.
- 7. Mittel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als Nanopartikel eine 25%ige wäßrige Lösung von Poloxamer eingesetzt wird.
- 8. Mittel nach Anspruch 1, gekennzeichnet durch folgende Bestandteile
  - als Cytostatikum 5-Fluoruracil,
  - Verkapselung in SUV-PEG,
  - als Stärkepartikel Spherex,
  - als Kontrastmittel Gadolinium-DTPA.
- 10 9. Mittel nach Anspruch 1, gekennzeichnet durch folgende Bestandteile
  - als Cytostatikum 5-Fluoruridin,
  - Verkapselung in SUV-PEG,
  - als Stärkepartikel Spherex,
  - als Kontrastmittel Gadolinium-DTPA.
- 15 10. Mittel nach Anspruch 1, gekennzeichnet durch folgende Bestandteile
  - als Cytostatikum Carboplatin,
  - Verkapselung in SUV-PEG,
  - als Stärkepartikel Spherex oder Gelfoam,
  - als Kontrastmittel Gadolinium-DTPA.
- 20 11. Mittel nach Anspruch 1, gekennzeichnet durch folgende Bestandteile
  - als Cytostatikum 5-Fluoruridin-5'-hexadecylphosphat,
  - Verkapselung in SUV-PEG,
  - als Stärkepartikel Spherex oder Gelfoam,
  - als Kontrastmittel Gadolinium-DTPA.
- 25 12. Verwendung des Mittels nach den Ansprüchen 1 bis 6 durch intraartikelle, intravenöse oder orale Applikation.

30

---

Hierzu 13 Seite(n) Zeichnungen

---

35

40

45

50

55

60

65